

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1938-1939. — N° 118

LA SULFAMIDE LIBRE DU SANG

APRÈS INGESTION DE
CARBOXY-SULFAMIDO-CHRYSOÏDINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 21 juillet 1939

PAR

Jean-Joseph BOIS

Élève du Service de Santé de la Marine

Né à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône), le 27 mai 1915

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAUREAC, professeur	Président.
		DAMADE, professeur	Juges.
		DE GRAILLY, agrégé	
		BROUSTET, agrégé	

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS

6. Place Saint-Christoly

1939

RECEIVED BY THE DIRECTOR

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

WASHINGTON, D. C.

OFFICE OF THE DIRECTOR

WASHINGTON, D. C.

RECEIVED BY THE DIRECTOR

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

WASHINGTON, D. C.

PAID

RECEIVED

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

WASHINGTON, D. C.

RECEIVED BY THE DIRECTOR

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

WASHINGTON, D. C.

RECEIVED BY THE DIRECTOR

U. S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE

WASHINGTON, D. C.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

1938-1939. — N° 118

LA SULFAMIDE LIBRE DU SANG

APRÈS INGESTION DE

CARBOXY-SULFAMIDO-CHRYSOÏDINE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le vendredi 21 juillet 1939

PAR

Jean-Joseph BOIS

Élève du Service de Santé de la Marine

Né à MARSEILLE (Bouches-du-Rhône), le 27 mai 1915

Examineurs de la Thèse	{	MM. MAURIAC, professeur	Président.
		DAMADE, professeur	Juges.
		DE GRAILLY, agrégé	
		BROUSTET, agrégé	

BORDEAUX
IMPRIMERIE-LIBRAIRIE DELMAS
6. Place Saint-Christoly

1939

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. MAURIAC.

ASSESEUR : M. LABAT.

DOYEN HONORAIRE : M. C. SIGALAS.

PROFESSEURS HONORAIRES :

MM. POUSSON, MOURE, BARTHE, DENIGÈS, BEILLE, CASSAËT,
CHAVANNAZ, C. SIGALAS, SABRAZÈS, BÉGOUIN, DUPOUY.

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	MAURIAC.	Zoologie et parasitologie	MANDOUL.
id.	DUPÉRIÉ.	Médecine expérimentale	AUBERTIN.
Clinique chirurgicale et gynécologique	GUYOT.	Clinique ophtalmologique	TEULIÈRES
Clinique chirurgicale	PAPIN.	Clinique chirurg. infantile et orthopédie	ROCHER.
Pathologie et thérapeutique générales	CARLES.	Clinique méd. des maladies des enfants	CRUCHET.
Clinique d'accouchements	ANDÉRODIAS.	Chimie biologique et médicale	MACHEBOEUF.
Anatomie pathol. et microscopie clinique	DAMADE.	Physique médicale et pharmaceutique	WANGERMEZ.
Anatomie	VILLEMIN.	Médec. coloniale et clin. des mal. exotiques	BONNIN.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	Clinique des malad. cutanées et syphilitiques	PETGES.
Hygiène	LEURET.	Clinique des maladies des voies urinaires	DUVERGEY.
Médecine légale et déontologie	LANDE.	Clinique des malad. nerveuses et mentales	ABADIE.
Electroradiologie et clin. d'électricité médic.	RÉCHOU.	Clinique d'oto-rhino-laryngologie	PORTMANN.
Chimie	CHELLE.	Toxicologie et hygiène appliquée	LABAT.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	Hydrologie thérapeutique et climatologie	CREYX.
Pharmacie	VITTE.	Clinique odonto-stomatologique	DUBECQ.
Physiologie	FABRE.		

MM. LACOSTE (Histologie). PERY (Obstétrique). PERRENS (Maladies mentales). R. SIGALAS (Parasitologie et sciences naturelles). JEANNENEY (Chirurgie générale).

AGRÉGÉS EN EXERCICE :

BIBLIOTHEEK LEIDEN		MM.		MM.
Anatomie		DUFOUR.	Chirurgie générale	LOUBAT.
Physiologie		N.	id.	MASSÉ.
Médecine générale		PIÉCHAUD.	id.	DARGET.
id.		DELMAS-MARSALET.	id.	N.
id.		DE GRAILLY.	Obstétrique	RIVIÈRE.
id.		FONTAN.	Ophtalmologie	BEAUVIEUX.
id.		BROUSTET.	Oto-rhino-laryngologie	DESPONS.
id.		DERVILLÉE.	Dermatologie et syphiligraphie	JOULIA.
id.		N.	Physique médicale	N.
Chirurgie générale		CHARRIER.	Chimie générale pharmaceut. et toxicologie	N.

COURS COMPLÉMENTAIRES :

MM.		MM.	
Médecine opératoire	JEANNENEY.	Ophtalmologie	CABANNES (en congé).
Accouchements	RIVIÈRE.	Physique médicale et pharmaceut. que	AURIAC.
Pathologie médicale	DELMAS-MARSALET.	Anatomie	J. BEAUVIEUX.
Puériculture	FAUGÈRE.	Chimie minérale	CASTAGNOU.
Zoologie et parasitologie	R. SIGALAS.	Botanique	GIRARD.
Médecine légale	DERVILLE.	Pharmacie galénique	MESNARD.
Urologie	DARGET.	Bactériologie	MOUREAU.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	Physiologie	PETITEAU.

Orthopédie chez l'adulte, pour les accidentés du travail, les mutilés de guerre et les infirmes. N.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

A LA MEMOIRE DE MES GRANDS-PARENTS

A MA GRAND-MERE

A MON PERE — A MA MERE

A TOUS LES MIENS

A MES AMIS

A MES CAMARADES
DE L'ECOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTE
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES

A MES PROFESSEURS
DE L'ECOLE PRINCIPALE DU SERVICE DE SANTE
DE LA MARINE ET DES TROUPES COLONIALES

A MONSIEUR LE DOCTEUR SERVANTIE

*Docteur en Médecine,
Docteur en Pharmacie,
Chef adjoint du Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André,
Croix de guerre.*

Qui nous a fourni le sujet de cette
thèse et a dirigé son élaboration.

Avec l'expression de toute notre reconnaissance et de notre admiration profonde.

A MONSIEUR LE MÉDECIN GÉNÉRAL CAZAMIAN

*Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et des Troupes coloniales,
Commandeur de la Légion d'honneur,
Officier du Mérite maritime,
Officier de l'Instruction publique.*

A MONSIEUR LE MÉDECIN EN CHEF VARACHE

*Sous-Directeur de l'Ecole Principale du Service de Santé
de la Marine et des Troupes coloniales,
Officier de la Légion d'honneur,
Médaille militaire,
Croix de guerre,*

A MES JUGES

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MAURIAC

*Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Professeur de Clinique médicale,
Membre correspondant de l'Académie de Médecine,
Chevalier de la Légion d'honneur,
Croix de guerre.
Officier de l'Instruction publique.*

Pour l'honneur qu'il nous a fait en
acceptant la présidence de cette thèse;
avec l'hommage de notre respectueuse
admiration.

LA SULFAMIDE LIBRE DU SANG

APRÈS INGESTION DE

CARBOXY-SULFAMIDO-CHRYSOÏDINE

AVANT-PROPOS

Nous ne saurions commencer ce travail sans remercier ici M. le Professeur Pierre Mauriac. Au cours de ses hautes leçons de clinique médicale, parsemées de saines critiques, en l'écoutant nous prévenir contre tout emballement thérapeutique, nous nous sommes préparé à discuter un des problèmes de traitement qui, à l'heure actuelle, retient le plus l'attention du monde médical.

Nous fûmes aussi encouragé dans notre effort par M. le Médecin en chef de la Marine Bideau. Nous lui exprimerons nos sentiments de gratitude pour sa bienveillance à notre égard.

Grâce à lui, nous avons été introduit auprès du docteur Servantie, chef adjoint du Laboratoire de biologie de l'Hôpital Saint-André. Nous avons pu ainsi nous documenter et nous mettre au courant de la technique la plus précise de dosage de la sulfamide dans le sang et les liquides de l'organisme. Nous avons, auprès de lui, réuni tous les éléments nécessaires à la compréhension du problème que nous nous étions posé : Est-ce que, dans le traitement préventif et curatif par la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, la concentration sanguine en sulfamide libre joue le rôle essentiel ?

Dans le chaos déjà formidable des travaux parus, des formules chimiques et des techniques souvent contradictoires, il nous fallait un guide sûr et infatigable. Le Docteur Servantie le fut pour nous. Nous avons pu utiliser son matériel, ses documents, ses résultats. Qu'il veuille trouver ici l'expression de notre vive reconnaissance avec le regret que l'élève n'ait pas su toujours se hausser au niveau du Maître.

M. le Professeur Aubertin nous a aimablement accepté au Laboratoire de biologie, et nous lui adresserons nos respectueux remerciements.

G. Demange nous a aidé avec une patience inlassable et une virtuosité remarquable dans la mise au point de l'appareil de Kenneth-Evelyn. Avec lui, nous remercierons enfin Sœur Anne-Marie, du Laboratoire de biologie, pour son aide, qui fut toujours si discrète et si utile.

INTRODUCTION

La chimiothérapie, c'est — littéralement — le traitement des maladies par les remèdes chimiques. Fragment de la thérapeutique à la fois restreint et immense, précis et vague, elle a donné lieu à une foule de recherches tendant à atteindre, neutraliser et détruire les germes pathogènes.

Cependant l'organisme, hôte de ce germe, ne devait pas être lésé et son bon fonctionnement physiologique demeurer intact.

C'est au sujet des parasitoses que se développa d'abord cette science. A la suite d'Erlich, qui en fut l'initiateur, la chimiothérapie obtint des résultats considérables, dans les spirochétoses, avec l'arsenic, le mercure, le bismuth; dans les trypanosomiasés et les leishmaniosés, avec l'antimoine; dans le paludisme, avec la quinine. La chimie fournit ainsi à la médecine des armes efficaces contre ces affections parasitaires.

Il n'en était pas de même dans les maladies microbiennes. Quelques essais, la gonacrine par exemple, ne donnèrent que des résultats médiocres en raison d'un coefficient chimiothérapique trop élevé.

Ce n'est qu'après Domagk, lorsqu'il démontra l'action du prontosil, la sulfamido-chrysoïdine, sur la septicémie streptococcique de la souris, que la chimiothérapie microbienne se mit à progresser à pas de géant.

Là où l'on ne rencontrait jusqu'alors que peu de noms français, on vit s'inscrire ceux de Fourneau, Levaditi, Trefouel, Tiffeneau, Girard, Gley, qui contribuèrent puissamment au développement de cette branche de la thérapeutique.

Le prontosil de Domagk, pourtant, n'était pas sans danger.

Il provoqua des accidents, il ne représentait pas encore la perfection, bien que son coefficient chimiothérapique, c'est-à-dire le rapport de la dose curative C à la dose toxique T fût de $1/4$, laissant ainsi une marge notable à ceux qui l'utilisaient.

C'est pour obtenir un corps plus maniable et pratiquement inoffensif que Gley et Girard, se basant sur des recherches dont nous parlerons au cours d'un prochain chapitre, furent conduits à créer la carboxy-sulfamido-chrysoïdine.

Cependant, au sujet de la sulfamido-chrysoïdine, comme au sujet de tout médicament nouveau, les pharmacologistes se préoccupèrent de divers problèmes. A côté de sa toxicité, de son activité thérapeutique, ils étudièrent les transformations chimiques subies par elle dans l'organisme en effectuant des dosages dans le sang et dans les urines et en y recherchant ses produits de décomposition.

En 1911, Sisley et Porcher avaient montré que les colorants azoïques, en particulier la chrysoïdine, se scindaient dans l'organisme en plusieurs molécules.

En 1935, les recherches pharmacodynamiques entreprises par Trefouel, Nitti et Bovet aboutirent à ce résultat : l'un des corps obtenus par la réduction de la sulfamido-chrysoïdine dans l'organisme, la para-amino-benzène-sulfamide ou sulfamide, était le véritable agent thérapeutique actif.

Kellner, sous la direction de Pierre Gley, démontra par des dosages la réalité de la rupture moléculaire de l'azoïque qui nous occupe, mais, fait capital, uniquement lorsqu'il était absorbé par voie digestive.

Ce produit prend une place considérable dans le traitement préventif et curatif des affections à streptocoques, et nous avons été étonné de l'absence de documents permettant de répondre aux questions suivantes :

— Est-ce que la carboxy-sulfamido-chrysoïdine ingérée se décompose entièrement dans l'organisme ?

— Est-ce que, dans le traitement préventif et curatif par ce produit, la concentration sanguine en sulfamide libre joue le rôle essentiel ?

— Quelle preuve apporte le dosage de la sulfamide sanguine comme témoin et guide de cette décomposition ?

Actuellement, la thérapeutique n'utilise guère plus le produit de Domagk. La sulfamido-chrysoïdine a été remplacée par la carboxy-sulfamido-chrysoïdine de Girard et Gley (azoïque-4 de Girard ou rubiazol actuel), produit moins toxique et plus actif que le précédent.

Fuller (1937) s'était posé lui aussi les mêmes questions pour le prontosil de Domagk et le prontosil soluble ou naphthalénique. Ses résultats, incomplets pourtant, lui avaient permis de conclure à une forte excrétion de sulfamide. En raison de l'usage de plus en plus répandu de l'azoïque-4 de Girard, nous avons cherché le taux de la concentration sanguine en sulfamide après ingestion de ce corps aux doses habituelles.

Nous ferons successivement : un exposé rapide des travaux antérieurs, une description de l'appareil utilisé et de la méthode mise au point par Servantie et Demange, un exposé de nos résultats.

Notre conclusion aura pour but d'établir si le traitement par la carboxy-sulfamido-chrysoïdine produit dans le sang une concentration en sulfamide telle que son action thérapeutique ne soit due qu'à la concentration de ce corps en quantité nécessaire.

Au cours de ce travail nous utiliserons les synonymes suivants :

1° Sulfamido-chrysoïdine, ou prontosil;

2° Carboxy-sulfamido-chrysoïdine, ou azoïque-4 de Girard, ou rubiazol actuel, même parfois « corps coloré », en opposition avec « corps blanc » pour la sulfamide;

3° p. amino-benzène-sulfamide, ou sulfamide. Nous avons adopté ce synonyme à la suite du professeur Fabre. Les auteurs américains utilisent le terme sulfanilamide. On trouve aussi dans la littérature, pour le même corps : Prontyline, 1162-F, Lysococcine, Néo-coccyll, Septoplix. Actuellement, on utilise aussi le Dagénan, M. B. 693, ou Sulfapyridine, aux Etats-Unis.

CHAPITRE PREMIER

QUE DEVIENNENT DANS L'ORGANISME LES CORPS AZOÏQUES ?

L'étude de la chimiothérapie bactérienne par les corps azoïques sulfamidés est de date très récente.

C'est en effet le 15 février 1933 seulement que Domagk, avec la collaboration de Mietzsch et Klarer, établit l'action de la sulfamido-chrysoïdine sur l'infection streptococcique expérimentale de la souris.

On peut noter cependant que, vers 1913, Lockman et Ulrich mirent en évidence le pouvoir antiseptique des colorants azoïques du type de la chrysoïdine; de même, en 1919, Jacobs et Heidelberg, en Amérique, signalèrent l'action bactéricide de la sulfamidazo-hydrocupréine; mais c'est la découverte vraiment capitale de Domagk qui donna l'essor à de nombreux travaux.

Ceux-ci sont considérables, mais, conformément au but que nous nous sommes proposé, nous n'envisagerons que l'élimination de ces corps azoïques et leur modification dans l'organisme. La documentation devient ici beaucoup plus restreinte.

Quelques travaux, cependant, se signalent à l'attention.

— Comme base de ces recherches, en 1911, nous trouvons les travaux de Sisley et Porcher;

— De ceux-ci ont découlé deux séries d'expériences: celles de Kellner, au sujet de l'élimination de la sulfamido-chrysoïdine; celles de Fourneau et ses collaborateurs, au sujet de l'action thérapeutique de ce corps.

Nous allons, en premier lieu, voir rapidement ce que furent les travaux de Sisley et Porcher.

Travaux de Sisley et Porcher.

Ces auteurs utilisèrent pour leurs recherches l'*orangé-I*, le *ponceau* cristallisé, et la *chrysoïdine*, tous corps voisins de l'azoïque-4 et, par conséquent, présentant pour nous un intérêt tout particulier.

Se basant sur l'hypothèse de la réduction de ces colorants au cours de leur passage dans l'organisme, ils recherchèrent dans les urines les produits de réduction.

Les résultats auxquels ils aboutirent varièrent considérablement suivant que l'animal utilisé, le chien, avait reçu ces composés par voie digestive ou par voie parentérale.

Voici quels furent ces résultats :

1° ORANGÉ-I.

Sa réduction aboutit à la formation d'acide sulfanilique et de 4-amino- α -naphthol.

5 grammes du produit ingéré par le chien permirent de mettre en évidence dans les urines des 48 heures suivantes la présence du sulfanilate de soude par formation après diazotation d'orangé-II.

Par voie parentérale, au contraire, 2 grammes d'orangé-I ne donnèrent aucune coloration et on ne put trouver aucune trace de sulfanilate de soude.

2° PONCEAU CRISTALLISÉ.

Sa réduction aboutit à la formation d' α -naphtylamine et d' α -amino- β -naphthol-disulfonique.

De même que dans l'expérience précédente, 5 grammes de ponceau ingéré donnèrent dans les urines la réaction recherchée.

Recherches de Kellner.

Guidé par les travaux de Sisley et Porcher, Kellner réalisa deux sortes d'expériences :

Il administra de la sulfamido-chrysoïdine à des animaux, en l'espèce lapin et chien, par injection et par ingestion;

D'autre part, il compléta ses recherches par quelques observations chez l'homme.

A. — Chez l'animal.

a) PAR INJECTION.

Le premier point acquis fut que, contrairement aux résultats de Sisley et Porcher, toute la quantité de colorant injecté ne passe pas dans les urines.

D'autre part, pour mettre en évidence la sulfamido-chrysoïdine, il rechercha un solvant, et arrêta son choix sur la pyridine, qui, après avoir fixé le colorant, est insolubilisée par saturation avec le sulfate d'ammoniaque.

Ses expériences furent ainsi conduites :

1° *Recherche dans les urines de la sulfamido-chrysoïdine à l'état de nature.* — On injecte à un lapin 20 cm³ d'une solution de sulfamido-chrysoïdine intraveineuse à 2 1/2 ‰, soit 0 g. 03 de ce corps. On recueille les urines des 24 heures suivantes.

On sépare le colorant comme décrit ci-dessus. Cependant, comme le pigment urinaire, l'urochrome est aussi soluble dans la pyridine, il convient de le séparer à l'aide d'acétone, qui ne le dissout pas, tout en entraînant la sulfamido-chrysoïdine.

Cette opération fut réalisée avec 5 cm³ de la solution pyridinique, plus 15 cm³ d'acétone.

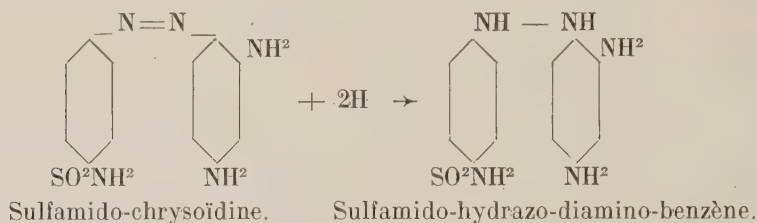
Les résultats obtenus après comparaison avec une solution étalon de sulfamido-chrysoïdine montrèrent la présence de 11 milligrammes seulement de ce corps sur les 50 milligrammes injectés.

Donc, par voie parentérale, la sulfamido-chrysoïdine peut être décomposée dans l'organisme.

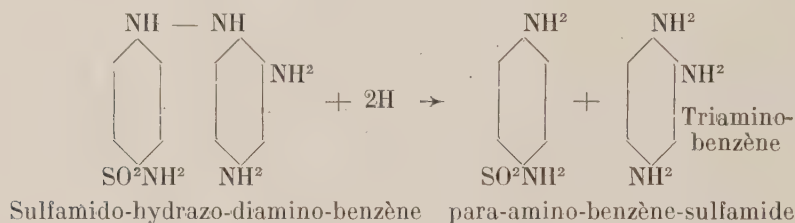
Mais on ne put déceler aussi dans les urines aucun produit de réduction partielle des colorants azoïques.

2° Recherche des produits de coupure de la sulfamido-chrysoïdine. — Sa réduction s'effectue en deux temps :

a. Fixation de 2 H et formation d'un hydrazoïque : sulfamido-hydrazo-diamino-benzène.



β. Fixation de 2 H sur l'hydrazoïque, qui se décompose en para-amino-benzène-sulfamide et triamino-benzène.



L'hydrazoïque est incolore, réduit la liqueur de Fehling, sans production d'ozazone et sans action sur la glycémie, ainsi que le démontra Kellner.

Or, les urines d'un chien traité comme il a été dit au début présentaient un fort pouvoir réducteur.

Quant aux produits de scission complète de la sulfamido-chrysoïdine, ils furent recherchés comme il suit :

Après diazotation par HCl dilué et nitrite de soude, le produit obtenu est copulé avec une solution alcaline de β-naphtol, et on obtient un azoïque rouge : le sulfamido-benzène-azo-oxy-naphtalène.

Cette recherche pratiquée dans l'urine fut entièrement et constamment négative.

En résumé, Kellner signala le premier la présence d'un corps réducteur : l'hydrazoïque; produit de réduction partielle de la sulfamido-chrysoïdine et qui est une phénylhydrazine dont le noyau porte un groupement SO^2NH^2 , tandis que l'un des hydrogènes de la fonction hydrazine a été substitué par la méta-phénylène-diamine.

Cette production fut vérifiée *in vitro* en décolorant par l'hydrosulfite de soude la solution de sulfamido-chrysoïdine.

b) PAR INGESTION.

1° *Chez le lapin.* — Le lapin reçoit par sonde gastrique 1 gramme de sulfamido-chrysoïdine en suspension dans l'eau. On recueille les urines des 24 premières heures et des 12 heures suivantes.

Dans les 24 premières heures on trouve :

- Du colorant à l'état de nature;
- Présence d'hydrazoïque;
- Absence des produits de réduction complète.

Dans les 12 heures suivantes :

- présence faible des produits de réduction complète.

2° *Chez le chien.* — On donne 0 g. 25 de sulfamido-chrysoïdine et on note à l'examen des urines :

- Présence du colorant en nature;
- Absence d'hydrazoïque;
- Présence d'azoïque coloré.

A. — Chez l'homme.

Les expériences réalisées montrèrent l'élimination en nature, l'absence d'hydrazoïque et la présence de para-amino-benzène-sulfamide.

Si les urines sont conservées un certain temps, on peut

mettre nettement en évidence les deux produits de réduction complète de la sulfamido-chrysoïdine:

Enfin, dans un cas de colibacillose, la décomposition fut totale, ce qui permet d'invoquer, comme le firent Sisley et Porcher, le rôle important joué par les fermentations intestinales.

Ces quelques travaux constituent à peu près toute la littérature à propos des transformations subies dans l'organisme par les colorants azoïques.

Nous en avons retenu un fait capital : aussi bien avec les colorants azoïques (recherches de Sisley et Porcher) qu'avec la sulfamido-chrysoïdine (travaux de Kellner) la rupture moléculaire du produit utilisé ne se produisit qu'en milieu digestif, la voie parentérale ne donnant aucune réaction, mettant en évidence ces produits de décomposition.

Fuller, dans des recherches plus récentes, en 1937, étudia aussi l'élimination du prontosil. Il utilisa une méthode qui nous paraît imparfaite et, de plus, administra simultanément de la sulfamido-chrysoïdine par ingestion et par injection. Néanmoins, il apparaît dans le sang des sujets traités par le prontosil de la sulfamide que l'on peut doser.

Recherches du laboratoire du Professeur Fourneau.

S'inspirant eux aussi des expériences de Sisley et Porcher, mais sans fournir de dosages *in vivo*, Fourneau et ses collaborateurs, M. et Mme Trefouel, Nitti et Bovet, en 1933, expérimentèrent non seulement sur des corps inspirés de la sulfamido-chrysoïdine, mais aussi sur les corps probables de coupure dans l'organisme : le triamino-benzène et la sulfamide.

La preuve de cette scission ne fut pas basée par eux, comme par Kellner, sur des recherches chimiques, mais sur des expériences pharmacodynamiques bien différentes.

C'est ainsi qu'ils établirent la preuve d'un phénomène biologique qui leur parut d'une valeur considérable.

Nous citerons à ce propos ce que dit Fabre dans sa conférence aux internes en pharmacie de Paris.

« Une preuve biologique de cette coupure... est donnée par l'observation du phénomène suivant. Nous savons que la sulfamido-chrysoïdine provoque chez l'animal des phénomènes allergiques. Injectée par voie intradermique, elle sensibilise le cobaye à une nouvelle injection; or, la para-amino-benzène-sulfamide est dénuée de ce pouvoir sensibilisant, tandis que le 1-2-3-triamino-benzène le possède; on a observé qu'un cobaye sensibilisé au triamino-benzène l'est aussi à la sulfamido-chrysoïdine.

» Etant donné la spécificité bien connue des réactions allergiques provoquées par des corps chimiques définis, ces faits ne peuvent s'expliquer que par la réduction dans l'organisme de la sulfamido-chrysoïdine et par la mise en liberté d'une triamine aromatique fortement sensibilisante. »

Des observations récentes sur le pouvoir sensibilisant de la sulfamide employée seule semblent contredire cette affirmation.

D'autres auteurs ont également basé sur des phénomènes biologiques la preuve de cette coupure.

C'est ainsi que Colebrook, Buttle et O'Meara constatèrent une différence nette d'action entre le prontosil et la sulfamide, suivant que l'on expérimentait *in vitro* ou *in vivo*. Ils obtinrent *in vivo* seulement une similitude de résultats avec les deux produits. Ils en conclurent que la sulfamido-chrysoïdine se décomposait en donnant de la para-amino-benzène-sulfamide, possédant seule l'action bactériostatique dans le sang des sujets traités avec le prontosil.

Ces divers points établis, pour compléter leurs recherches, Trefouel, Nitti et Boyet expérimentèrent sur l'infection streptococcique de la souris divers produits résultant de la combinaison du diazoïque de la para-amino-benzène-sulfamide avec différents composés, parmi lesquels des mono-phénols et poly-alcools, alcoylés ou non.

Tous ces corps se montrèrent doués d'un pouvoir anti-streptococcique manifeste.

Ils en déduisirent qu'ils n'agissaient qu'après mise en

liberté de para-amino-benzène-sulfamide, leur noyau commun, qui représentait ainsi le groupement antimicrobien actif.

« Pour que des composés aussi différents, ont-ils écrit, agissent de manière à peu près identique, n'est-ce pas parce qu'ils subissent dans l'organisme une série de modifications dont le premier terme serait la coupure de la double liaison avec formation de sulfamide ? »

Enfin, expérimentant sur le second produit de rupture, le triamino-benzène, ils le trouvèrent dénué de toute action thérapeutique.

Ainsi, Trefouel, Nitti et Bovet arrivèrent à cette conclusion : la sulfamide est la seule partie active des composés azoïques.

Dès lors, dirent-ils, pourquoi s'encombrer d'une lourde molécule inutile ? Pourquoi utiliser la sulfamido-chrysoïdine active par sa seule sulfamide, et qui ne possède par suite que 52 % de son poids comme agent actif.

Particulièrement catégoriques à ce sujet, Nitti et Bovet, dans un rapport à la Société de biologie, concluent :

« La sulfamido-chrysoïdine semble n'exercer aucune action protectrice pour la souris inoculée avec des souches de streptocoques hémolytiques humains de faible virulence.

» Elle n'exerce qu'une action inconstante sur la souris inoculée avec une souche de grande virulence. »

Fuller, moins catégorique, déclara seulement que la sulfamide était peut-être l'agent actif dans la thérapeutique par le prontosil.

En résumé, pour comprendre ce que deviennent les azoïques dans l'organisme, nous voyons, avec Sisley et Porcher, l'importance de la voie d'entrée. Par la voie digestive, un azoïque comme la chrysoïdine est réduit, sans doute par fermentation intestinale, avec une élimination de deux corps correspondant aux deux noyaux originels : aniline et triamino-benzène. Par la voie parentérale, cette scission ne semble pas se produire et le corps est éliminé en nature.

Kellner, en partant des recherches précédentes, confirma pour la sulfamido-chrysoïdine l'importance et la sélectivité de la voie d'entrée. Il montra, en outre, que, suivant l'espèce animale envisagée, la réduction intestinale peut être incomplète avec formation d'hydrazoïque (lapin) ou poussée partiellement jusqu'aux termes ultimes : sulfamide et triamino-benzène (chien et homme).

Fuller, en dosant la sulfamide dans le sang et l'urine, conclut que la quantité de sulfamide trouvée après administration de prontôsîl était importante. Il n'osa cependant attribuer à la seule sulfamide l'action thérapeutique totale du prontôsîl.

Par l'expérimentation pharmacodynamique sur la souris, Fourneau, Trefouel, Nitti et Bovet, en essayant le prontôsîl et des corps similaires, ont constaté que, parmi les produits de coupure, le triamino-benzène était inactif, tandis qu'au contraire la sulfamide avait une activité remarquable.

Nous voyons donc qu'en partant de la chrysoïdine, puis de la sulfamido-chrysoïdine, la conclusion des dosages chimiques et de la méthode expérimentale met d'abord en valeur l'importance de la scission de l'azoïque ingéré et d'un des produits de coupure, la sulfamide.

Nous devons maintenant étudier si le corps thérapeutique utilisé, la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, répond, comme le prontôsîl, au schéma de décomposition étudié et dans quelle proportion.

CHAPITRE II

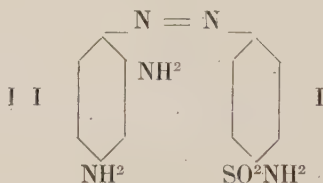
LA CARBOXY-SULFAMIDO-CHRYSOÏDINE

RAISONS DE SON UTILISATION

La sulfamido-chrysoïdine a été successivement utilisée sous trois formes :

- 1° le prontosil primitif : prontosil rouge de Domagk;
- 2° le néo-prontosil soluble ou rubiazol injectable;
- 3° la carboxy-sulfamido-chrysoïdine ou rubiazol actuel en comprimés.

1° *Le prontosil rouge de Domagk*, repris en France par Girard sous forme de chlorhydrate, est la sulfamido-chrysoïdine ou sulfamido-4-diamino-2-4-azo-benzène.



Ce composé, qui n'est pratiquement plus employé actuellement, était doué d'une action bactéricide intense vis-à-vis du streptocoque avec un coefficient chimiothérapique C/T = 1/4.

Son action, si elle était très forte *in vivo*, était entièrement nulle *in vitro*. Doué d'un pouvoir colorant intense pour la peau, propriété souvent fâcheuse, il se donnait à la dose moyenne de 6 comprimés de 0 g. 25 pour l'adulte.

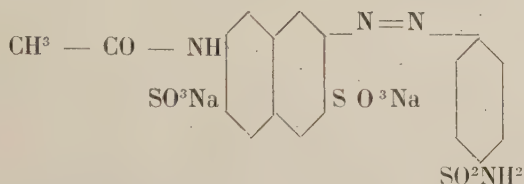
Son élimination était lente et il colorait les urines longtemps après son absorption.

D'autre part, son emploi n'était pas sans danger. Mal toléré par le tube digestif et le rein, les accidents signalés,

peut-être dus à un emploi abusif du produit à ses débuts, n'étaient pas toujours fugaces.

Ces divers inconvénients, joints à sa faible solubilité, 2,5 p. 0/00 seulement, conduisirent à la création de nouvelles formes.

2° *Le néo-prontosil soluble*, ou prontosil S., ou rubiazol injectable : C'est un sel disodique du dérivé acétylé et sulfuré d'un azoïque naphthalénique.



Employé en solution jaune rougeâtre à 5 p. 0/0, c'est le rubiazol injectable par voie intramusculaire.

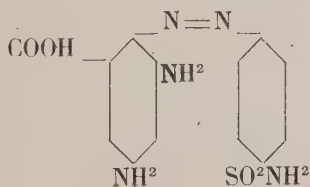
Il est rapidement éliminé, en quelques heures.

Primitivement réservé à la voie intraveineuse, il a provoqué quelques accidents imprévisibles, qui ont fait abandonner cette voie.

On donne 10 à 20 cm³ de la solution une à deux fois par jour.

3° *Carboxy-sulfamino-chrysoïdine*, rubiazol-4, azoïque-4 : Girard et Gley, considérant la formule primitive du prontosil (cf. formule du prontosil de Domagk), constatèrent qu'un groupement acide introduit dans le noyau I fait disparaître toute activité thérapeutique, mais fixé convenablement sur le noyau II, il exalte, au contraire, l'activité antistreptococcique du composé.

On obtient ainsi la carboxy-sulfamino-chrysoïdine ou azoïque-4 de Girard (rubiazol actuel), utilisé en comprimés seulement.



« Ce produit, dit Girard, n'a, à notre connaissance, aucun accident à son actif; sinon quelques érythèmes légers chez les nourrissons. »

De plus, expérimenté par cet auteur sur 100 souris infectées, il donna 66 0/0 de survie, alors que la sulfamido-chrysoïdine ne donnait que 34 p. 0/0.

C'est le produit couramment utilisé en thérapeutique actuelle.

En ce qui concerne sa posologie, on peut aller jusqu'à 12 comprimés et plus, chacun d'eux étant dosé à 0 g. 20 du produit.

Pratiquement la dose préventive est 6 à 8 comprimés, la dose curative pouvant être beaucoup plus élevée. Ainsi Lacomme; dans les fièvres puerpérales, a pu faire ingérer 40 à 50 comprimés, soit 8 à 10 grammes du produit par jour, sans incident.

En ce qui nous concerne, nous nous sommes aperçu d'une chose :

Si le prontosil rouge ou le prontosil soluble avaient été l'objet de dosages dans les liquides organiques, des recherches approfondies dans la littérature médicale ne nous montrèrent aucune tentative à ce sujet à propos de la carboxy-sulfamido-chrysoïdine.

Pourtant, ce corps, au début de son utilisation, fut l'objet de recherches pharmacodynamiques et thérapeutiques qui conduisirent à des restrictions importantes dans la théorie de Tréfouel, considérée jusqu'alors comme inattaquable au sujet de l'activité de la sulfamido-chrysoïdine.

Certains faits et expériences furent mis en lumière, qui cadraient mal avec l'hypothèse de Fourneau.

Nous allons rapporter brièvement ici ces recherches.

C'est Girard, dans un article des *Annales médico-chirurgicales*, qui en a remarquablement fait la synthèse.

*Etat actuel de la chimiothérapie antistreptococcique
par les dérivés sulfamidés.*

I. — Arguments expérimentaux.

Il constata d'abord que Fourneau, Meyer et Goissedet arrivaient à exalter les propriétés thérapeutiques de l'aminosulfamide par fixation d'un radical benzyle sur l'atome d'azote, c'est-à-dire en alourdissant sa molécule d'un poids presque égal de radical inerte; principe à priori en opposition avec leur hypothèse.

Mais surtout il apporta de nombreux faits expérimentaux, qui, par leur seul énoncé, atténuent singulièrement la théorie de Fourneau.

Il n'accorde d'abord aucun intérêt aux expériences réalisées sur de tout petits lots d'animaux, expériences qui, à ses yeux, ne présentent aucune valeur statistique et expliquent souvent à elles seules les contradictions de la littérature.

De plus, en ce qui concerne les souches microbiennes utilisées, il se servit de germes de virulence moyenne et en grand nombre, contrairement aux expérimentateurs étrangers qui préféraient des souches de virulence exaltée.

Il estima ainsi se rapprocher davantage des conditions de la clinique humaine.

Parlant enfin de ses propres résultats, portant sur un lot de 440 souris, il est particulièrement catégorique : « Toutes les expériences, sans exception, dit-il, montrent que, quels que soient la dose administrée ou son mode de fractionnement, la voie d'administration choisie, l'aminosulfamide se révèle manifestement moins active que les azoïques correspondants introduits en thérapeutique. »

Administrant parallèlement à des animaux infectés à doses égales et suivant un mode identique de la carboxy-sulfamido-chrysoïdine ou de l'aminosulfamide, il obtint avec le premier 58 0/0 de survies définitives, avec le deuxième, 8 0/0 seulement.

Or, suivant Tréfouel, l'azoïque n'agissant que par son produit de scission, l'aminosulfamide ne devrait avoir une

action qu'en fonction de la quantité de ce corps mise en liberté, c'est-à-dire 52 0/0 de son propre poids.

Comme on le voit, il n'en serait pas toujours ainsi.

De plus, si on élève la dose de sulfamide, on s'aperçoit que, pour obtenir un égal pourcentage de survies, il faut 2 à 3 fois plus de sulfamide que de colorant azoïque.

Nous pourrions citer ici Levaditi et Vaisman, qui, ayant opéré sur deux séries de souris avec des souches de virulence moyenne ou de grande virulence, obtinrent des résultats identiques dans les deux cas.

Tous les témoins moururent du 2^e au 4^e jour;

Les souris traitées :

1 morte le 3^e jour;

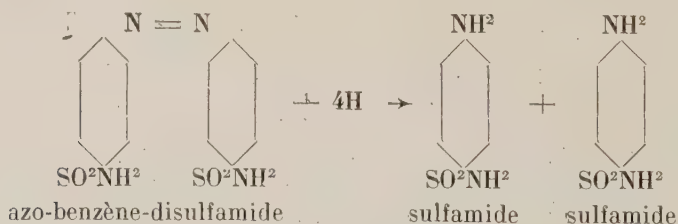
2 mortes le 6^e jour;

1 morte le 8^e jour;

6 survécurent définitivement,

ce qui constitue 60 0/0 de survie.

Enfin, et ceci nous semble d'une importance primordiale, il expérimenta un autre dérivé azoïque de l'amino-sulfamide à formule symétrique donnant par coupure 2 molécules de ce composé. C'est l'azo-benzène-disulfamide qui engendre donc par réduction son propre poids d'amino-sulfamide.



Ce corps se montra doté d'un pouvoir antistreptococcique très faible.

II. — Arguments cliniques.

On peut citer en clinique, bien que la question soit beaucoup moins étudiée, quelques faits identiques.

Colebrook et Purdie, ayant traité 106 cas d'infection puer-

pérale, disent que, pour eux, la sulfamide a donné des résultats légèrement moins satisfaisants que le traitement par les corps rouges.

De même, Colebrook et Kenny, parlant à la fois d'expériences réalisées sur la souris et de faits cliniques, concluent textuellement :

« Dans beaucoup des cas les plus graves, le composé a exercé un effet bienfaisant définitif, manifesté par une chute rapide et inattendue de la température et une rémission très nette des symptômes. »

Ils citent deux cas de péritonite généralisée qui, traités par le prontosil, évoluèrent favorablement, malgré la gravité de l'état des malades.

A la lumière de ces faits, il semble donc que la carboxy-sulfamido-chrysoïdine ait une action propre supérieure à la sulfamide, vis-à-vis du streptocoque.

Mais vis-à-vis de lui seul, car d'autres faits interviennent.

III. — Action élective de la carboxy-sulfamido-chrysoïdine.

Levaditi et Vaisman déjà, dans un rapport à la Société de biologie, en 1933, mirent en valeur cette spécificité.

Ils expérimentèrent sur des germes très divers, parmi lesquels ils citent le staphylocoque, le B. de Friedlander, le proteus X-19, le paratyphique B et le B. pseudo-tuberculeux de la souris.

Toutes ces expériences montrèrent le peu d'action de la sulfamido-chrysoïdine sur ces germes.

Nous savons également que Nitti et Bovet avaient étudié la valeur de ce corps dans le traitement des affections à pneumocoques et avait conclu à son inefficacité. Rosenthal arrive à des conclusions identiques avec ce germe.

D'autres germes encore servirent à des travaux chimiothérapiques.

En juin 1937, les mêmes Levaditi et Vaisman, réalisant une péritonite à gonocoques mortelle pour les souris, obtinrent par la sulfamido-chrysoïdine des résultats nettement inférieurs à ceux donnés par les sulfamides.

Des infections à méningocoques aboutirent aux mêmes résultats.

Pourrait-on prétendre que le streptocoque seul provoque dans l'organisme la scission de la sulfamido-chrysoïdine, invoquée par Fourneau comme la condition nécessaire et suffisante pour que ce corps soit actif.

Ceci ne nous paraît pas soutenable.

Girard conclut donc que la sulfamido-chrysoïdine a une activité spécifique propre plus grande que son dérivé sulfamidé.

Pour expliquer cette action, il formule une hypothèse.

Considérant que, dans la formule de la sulfamido-chrysoïdine, on trouve un noyau vecteur de l'activité thérapeutique, celui qui porte le groupement sulfamidé, et un noyau colorant, il déclare que c'est de ce second noyau que dépend l'aptitude du corps à se fixer électivement sur un tissu ou sur un germe.

Etant données les aptitudes tinctoriales bien définies des divers germes, cette hypothèse mérite d'être retenue.

Actuellement, à l'heure où nous avons entrepris nos recherches, nous nous sommes donc trouvé en face d'un fait nouveau. La question de la sulfamido-chrysoïdine rebondissait avec l'introduction, par Gley et Girard, de la forme carboxylée, et, à son sujet, ces auteurs remettaient en cause la théorie de Fourneau en établissant que leur azoïque-4 se révélait, vis-à-vis du streptocoque, mais, entendons-le bien, vis-à-vis de lui seul, car ils ne contestaient pas la valeur bactéricide de la para-amino-benzène-sulfamide envers les autres germes, se révélait, disons-nous, bien plus actif que les dérivés sulfamidés seuls.

Nous basant sur cette affirmation, nous avons décidé de réaliser ce qui, jusqu'alors, n'avait pas été fait pour la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, c'est-à-dire le dosage dans le sang de ses produits de décomposition.

Pour nous aider, nous avons utilisé les recherches anté-

rieures touchant l'élimination de la seule sulfamide, recherches qui avaient établi un point essentiel.

La sulfamide doit, pour être active, présenter dans le sang un minimum de concentration de 0 mg. 5 %. En ce cas, le dosage des produits de scission de l'azoïque-4 peut amener à deux conclusions différentes :

1° Soit conforme à la notion de concentration du sang en sulfamide libre, et alors l'hypothèse de Fourneau s'en trouve fortement accréditée;

2° Soit non conforme à cette concentration, d'où il résulte que la sulfamide n'étant plus en quantité suffisante pour obtenir l'action thérapeutique désirée, les affirmations de Girard se trouvent vérifiées : la carboxy-sulfamido-chrysoïdine a une action propre, notablement supérieure et une spécificité différente de celle de son corps de scission.

En résumé, en raison des inconvénients de la sulfamido-chrysoïdine, Girard et Gley ont expérimenté avec un nouveau corps : la carboxy-sulfamido-chrysoïdine ou azoïque-4 de Girard. L'apposition d'un radical acide dans le noyau triaminé renforcerait considérablement les propriétés thérapeutiques du produit vis-à-vis du streptocoque tout en diminuant le pouvoir toxique.

Les arguments pharmacodynamiques ont ici une valeur différente de ceux apportés par Fourneau et son Ecole.

En particulier, il est difficile de comprendre la spécificité de l'azoïque-4 vis-à-vis du streptocoque et son action fort restreinte vis-à-vis des autres germes.

Dans tous les cas, cependant, la coupure serait la même, et on ne voit pas pourquoi la sulfamide libérée n'aurait pas la même action que la sulfamide pure sur les pneumocoques, gonocoques, ou autres microbes.

Il manque cependant l'argument chimique admis maintenant pour le traitement par les corps sulfamidés : la concentration sanguine en sulfamide libre au cours du traitement par l'azoïque-4.

Nous aurons donc à mettre en évidence si la sulfamide libre se trouve à un taux voisin de 5 centigrammes par litre de sang, limite minimum de la densité active, ou bien si, au contraire, le chiffre trouvé est nettement inférieur.

Dans le premier cas, nous retombons dans le traitement normal par la sulfamide, et il n'est pas besoin de charger inutilement la molécule.

Dans le deuxième, nous serons obligé de conclure à une action activante de la partie du produit accolée au noyau sulfamide.

CHAPITRE III

APPAREILLAGE ET METHODE

Principe de la technique.

Comme nous l'avons déjà exposé, le point de départ de nos recherches et aussi le point qui nous obligea à modifier la méthode couramment employée réside dans une notion qui, actuellement, se précise nettement: l'influence de la dosé nécessaire de concentration du sang en sulfamide libre.

Les auteurs américains Long et Bliss, au cours de plusieurs travaux, y avaient déjà insisté. Ils estimaient qu'en raison des résultats obtenus *in vitro*, il fallait arriver *in vivo* à une concentration voisine de 1/10.000^e, c'est-à-dire 0 g. 10 de sulfamide libre par litre de sang.

D'autres auteurs sont arrivés à des conclusions identiques avec des résultats de dosages à peu près semblables.

C'est ainsi que Fabre, effectuant une série de recherches à ce sujet, déclare :

« Le taux de para-amino-benzène-sulfamide retrouvé dans les urines, le sang et le liquide céphalo-rachidien, est directement proportionnel à la quantité de sulfamide administrée par voie buccale. »

Il donne comme chiffres moyens en sulfamide pour pour 100 cm³ :

Urine	50 à 200 mg.
Sang	2 à 10 mg.
Liquide céphalo-rachidien	3 à 9 mg.

Comme on le voit, il arrive dans le sang à 10 milligrammes par 100 cm³, soit 10 centigrammes par litre, ce qui est conforme aux résultats déjà cités.

Ce taux, supérieur ou égal à 5 centigrammes dans tous les cas, est actuellement considéré comme le taux efficace de la thérapeutique par la sulfamide.

Nos expériences ont consisté à doser dans le sang et dans les urines la para-amino-benzène-sulfamide témoin de la rupture de la sulfamido-chrysoïdine; et à voir si la quantité retrouvée était en accord avec cette notion de minimum efficace, accord nécessaire si la sulfamide représente vraiment la seule partie active de la formule.

Lorsqu'on part de cette hypothèse, il faut tenir compte, comme l'a montré Fuller, qu'une dose donnée de sulfamide est produite par 1,9 fois son poids de prontosil ingérable et par 3,3 fois son poids de prontosil soluble. Pour lui, qui opère simultanément avec les deux produits, il utilise le chiffre moyen de 2,6 fois; pour nous, seul le premier chiffre doit être retenu.

La réaction sur laquelle est basé le dosage est une diazotation facile à effectuer sur la sulfamide, qui possède une fonction amine libre. L'action de l'acide nitreux produit un diazoïque qui est copulé avec la diméthyl- α -naphtylamine, ce qui conduit à une matière colorante d'un rouge plus ou moins foncé suivant les modalités de la réaction.

La sulfamide nécessite deux séries de dosage : l'un direct, portant sur la partie libre; l'autre portant sur la partie qui se trouve dans les humeurs à l'état conjugué (probablement acétylé) et qui devra être libéré par hydrolyse.

La technique employée a été celle de Marshall, légèrement modifiée par divers chimistes.

Dans ce qui va suivre, nous nous servons des recherches et de la mise au point réalisée par MM. Servantie et Demange.

Modifications apportées à la méthode de Marshall.

Un des temps délicats de cette technique réside dans la préparation d'une échelle d'étalons colorés pour permettre la comparaison avec la teinte obtenue après diazotation et copulation.

Cette échelle ne se conserve que 30 minutes, d'où nécessité de la renouveler à chaque expérience.

En utilisant la méthode de Marshall, celle-ci a présenté deux causes principales d'erreurs :

1° Il se produit souvent, après diazotation et copulation avec le réactif à la diméthyl- α -naphtylamine, une coloration qu'il est difficile de comparer aux étalons traités simultanément par suite de teintes parasites, dues au réactif lui-même;

2° La rapidité de développement de la teinte varie dans de larges limites, la coloration n'est pas stable, d'où impossibilité de la comparer à une gamme d'étalons fixes.

En ce qui concerne le second point, Marshall et Lichtfield ont, en juillet 1938, modifié leur technique.

Deux points ont été précisés :

1° Nécessité de fixer l'acidité du milieu à un pH final compris entre 4,7 et 4,8.

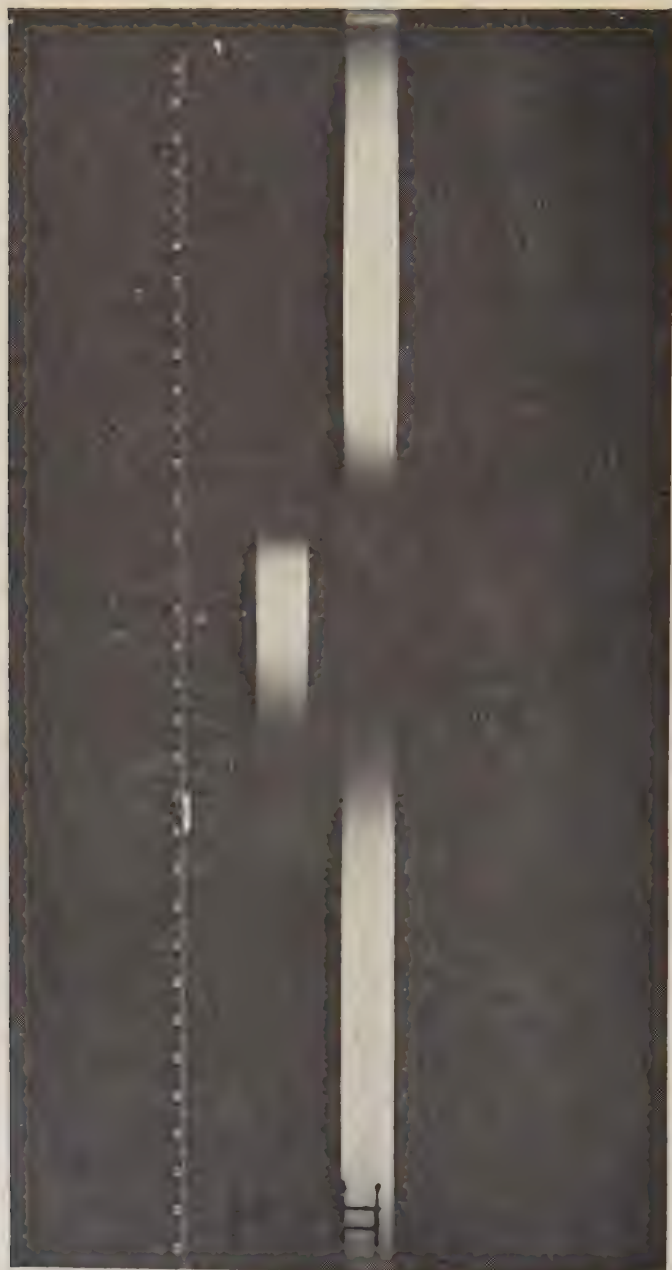
2° Arrêter l'action de l'acide nitreux dans la diazotation après un délai de 3 minutes.

La couleur obtenue apparaît alors rapidement et demeure stable. On arriva au résultat en détruisant l'excès d'acide nitreux par une solution de sulfamate d'ammoniaque et en utilisant du phosphate diacide de sodium comme agent tampon.

Le tout introduit dans la réaction après diazotation et avant la copulation.

La question des teintes parasites fut aussi envisagée. Pour les éviter, E. A. Mac-Lachlan et ses collaborateurs se sont servis de l'électrophotocolorimètre de Kenneth-Evelyn. Par des études spectrographiques, ils ont montré que la teinte finale de la réaction présentait un maximum d'absorption vers 5.200 Å; les teintes parasites vers 4.000 et 6.000 Å.

Ils ont mesuré ensuite les absorptions produites par les réactions colorées en utilisant un flux de lumière sensiblement monochrome isolé au moyen d'un filtre et centré vers



I. — Bande d'ouverture du filtre utilisé. Filtre sélectif de 520 de K. A. Evelyn.
II. — Bande d'absorption du spectre de la sulfamide après réaction de Marshall.

5.200 Å en une étroite bande spectrale allant de 5.000 à 5.400 Å.

Cependant Mac-Lachlan n'utilisait pas la deuxième technique de Marshall et n'a pu s'affranchir de la seconde cause d'erreur.

C'est en évitant cette deuxième cause que M. le Docteur Servantie et Demangé ont réalisé le système de dosage que nous allons exposer ici.

Principe de l'appareil de Kenneth-Evelyn.

Cet appareil est un colorimètre photo-électrique à une seule cellule. Le point essentiel est la stabilité de l'éclairage, qui permet l'élargissement du champ d'application d'un tel colorimètre. Par l'utilisation de filtres sélectifs, on peut résoudre les problèmes nécessitant auparavant l'usage d'un spectrophotomètre, ou même obtenir des résultats que ce dernier dispositif lui-même ne peut fournir.

La réalisation qui en a été faite par M. Servantie et Demange sera décrite ultérieurement dans un travail inaugural.

Etablissement d'une courbe de concentrations.

Après avoir vérifié les assertions de Mac-Lachlan à l'aide du grand spectrographe Zeiss, M. Servantie et Demange, assurés de la stabilité de la coloration, ont pu étalonner l'appareil utilisé à l'aide de témoins et établir une courbe.

Le principe mis en jeu est le suivant :

On mesure, à l'aide du photomètre, les densités optique L ($\log. I_0/I$) des solutions colorées interposées sur le faisceau lumineux d'intensité lumineuse I_0 ; I étant l'intensité transmise, cela pour une épaisseur constante.

On utilise la formule $C = L/K$; C étant la concentration en substance active (sulfamide) de chaque tube; K un coefficient valable pour le filtre utilisé et constant pour des quantités de sulfamide allant de 1 à 20.

Ceci montre que la loi de Beer-Lambert (proportionnalité des densités optiques aux concentrations) est satisfaite.

Connaissant K et mesurant L, on peut calculer C.

On porte L en abscisse, et C en ordonnée.

On a une courbe, constituée en fait par une droite, variation de C en fonction de L.

Mesurant L, il est facile de se reporter à la table pour avoir aussitôt la concentration C en substance active.

Cette méthode, particulièrement rapide, sitôt étalonné l'appareil, permet des dosages en série très nombreux et une précision de l'ordre de 1/10 de microgramme.

Il faut cependant, K étant déterminé, utiliser toujours une même épaisseur et un même réactif. Cela a conduit préalablement à étalonner toute une série de tubes, donnant tous une même déviation de l'appareil, et qui nous ont ensuite servi pour nos dosages.

Nous allons maintenant donner au complet le processus technique utilisé dans nos diverses expériences de dosage, qui ont porté sur le sang, les urines et également le lait.

Technique générale des dosages.

Les réactifs utilisés sont :

- 1° Acide trichloracétique à 20 %.
- 2° Eau saponinée à 0 g. 05 %.
- 3° Solution de nitrite de soude chimiquement pur à 0,10 %, préparée chaque jour.
- 4° Solution-tampon de sulfamate d'ammoniaque obtenue comme il suit : mettre dans un ballon de 100 cm³ 10 cm³ d'eau, ajouter 0 g. 50 d'acide sulfamique, SO⁴H.NH², puis, goutte à goutte, de l'ammoniaque en présence de bromothymol sur du papier-filtre avec une pipette très fine jusqu'à neutralisation (procédé à la touche), environ 0 cm³ 8 de solution d'ammoniaque pure. Ajouter 13 g. 80 de phosphate acide de sodium et eau distillée en quantité suffisante pour compléter à 100 cm³.

5° Réactif de Marshall : 1 cm³ de diméthyl- α -naphtylamine dans de l'alcool à 95°, quantité suffisante pour 250 cm³, à conserver à l'abri de la chaleur et de la lumière.

A. — Dosage dans le sang.

Pour recueillir le sang, nous avons utilisé des tubes à centrifuger, que nous avons gradués à 4 cm³ pour simplifier le prélèvement, et dans lesquels nous avons mis au préalable 0 cm³ 04 d'une solution d'oxalate de potassé à 20 %.

On prélève 2 cm³ de sang oxalaté, après avoir bien mélangé au moment de la prise, et on verse lentement dans un tube contenant 6 cm³ d'eau saponinée; on mélange avec un agitateur et on ajoute 2 cm³ d'acide trichloracétique à 20 %.

Après un repos de 10 à 15 minutes on filtre; on peut aussi centrifuger.

On prélève 3 cm³ du filtrat.

2 cm³ seront utilisés pour le dosage direct, 1 cm³ pour le dosage total après passage au bain-marie.

1° DOSAGE DIRECT.

Dans un tube préalablement étalonné pour l'appareil de Kenneth-Evelyn et jaugé à 10 cm³ on met :

2 cm³ du filtrat;

3 cm³ d'eau distillée;

0 cm³ 5 d'une solution de nitrite de soude à 0 g. 1 %,

on mélange par agitation et on attend 3 minutes.

Ajouter 1 cm³ de la solution-tampon.

Mélanger de même; attendre encore 2 minutes.

Ajouter 3 cm³ de la solution alcoolique de diméthyl- α -naphtylamine.

Compléter à 10 cm³ avec de l'eau distillée et mélanger.

Parallèlement, il faut préparer un tube témoin servant de repère à l'appareil.

On y met :

1 cm³ d'acide trichloracétique;

4 cm³ d'eau distillée; plus les autres réactifs.

L'appareil de Kenneth-Evelyn est réglé avec le témoin, puis celui-ci est remplacé par le tube à essayer.

La déviation G de l'appareil donne, dans la table correspondante, le chiffre L, et ainsi on peut, à l'aide de la courbe, avoir immédiatement la concentration du sang en sulfamide.

2° DOSAGE TOTAL.

On se sert des tubes précédents, dans lesquels on met :

1 cm³ du filtrat sanguin trichloracétique;

1 cm³ de HCl normal;

on place 45 minutes au bain-marie bouillant, en évitant une trop forte évaporation.

Le mélange refroidi, on y ajoute 2 cm³ d'eau distillée.

Après ces divers temps, le protocole de la réaction se répète identiquement à celui précédemment utilisé pour le dosage direct.

Le même tube témoin est aussi employé.

B. — Dosage dans les urines.

Seul, le mode de prélèvement varie, les temps du dosage n'étant aucunement modifiés en ce qui concerne la sulfamide directe et totale.

On prélève dans un ballon jaugé à 50 cm³ (en connaissant la quantité d'urine émise par le sujet dans les 24 heures le jour de l'expérience), 1 cm³ d'urine, auquel on ajoute 10 cm³ d'acide trichloracétique à 20 %.

Eau en quantité suffisante pour 50 cm³. Mélanger.

On filtre si l'urine est trouble.

On met dans un tube destiné à l'appareil de Kenneth-Evelyn : 2 cm³ d'urine diluée au 1/50 pour le dosage direct, 1 cm³ pour le dosage total. Les autres temps de la réaction

étant identiques à ceux effectués pour le sang dans les deux cas.

Pour contrôler la réaction, on utilise les tubes témoins, en vérifiant fréquemment au cours du dosage la constance du point fixe.

L'appareil utilisé a présenté à ce point de vue, après correction, une constance remarquable. Ainsi, des dosages répétés à 10, 60, 120 minutes, et même 24 heures d'intervalle, donnèrent des résultats identiques.

Il résulte de tout cela que, n'ayant plus de teintes parasites et la stabilité de la réaction étant assurée par cette méthode, les résultats obtenus furent rapides et précis.

La sensibilité est considérable, puisqu'elle nous a permis de doser jusqu'à 2 microgrammes en sulfamide.

De plus, la loi de Beer-Lambert joue dans ces conditions et permet d'utiliser une gamme stable ou une courbe d'éta-
lonnage ce dernier procédé ayant eu notre préférence.

CHAPITRE IV

OBSERVATIONS ET RESULTATS

COMMENTAIRES

A l'heure actuelle, l'emploi de la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, à la suite des travaux de Lacomme, Balard, Le Lorier, tend à se généraliser, soit à titre préventif, soit à titre curatif.

C'est le plus souvent chez des patientes traitées à titre préventif que nous avons dosé la sulfamide sanguine.

Comme nous l'avons déjà dit, nous avons eu pour but de voir si le taux de concentration du sang en sulfamide libre était inférieur ou égal au taux nécessaire, dans le traitement sulfamidé seul, pour obtenir un effet thérapeutique.

D'ailleurs, pour vérifier et renforcer nos affirmations au sujet du sang, nous avons pratiqué d'autres dosages.

1° DANS LE LAIT. — En effet, des travaux récents montrent que la sulfamide passe dans le lait à des taux plus élevés que dans le sang, et l'on pouvait se demander si, d'après l'hypothèse de Fourneau, le traitement préventif par ce corps, libérant dans l'organisme de la sulfamide, n'allait pas nuire à l'enfant prêt à naître ou au nourrisson qui absorbe un lait imprégné de la substance thérapeutique.

De plus, le dosage dans le lait nous a donné une preuve complémentaire de l'exactitude de nos chiffres sanguins.

2° DANS L'URINE. — Ceci surtout dans le but de contrôler la prise du médicament, contrôle absolument nécessaire, car, ainsi que nous le verrons, le sang de certains sujets peut présenter une réaction de Marshall faible en dehors de tout traitement par corps sulfamidés rouges ou blancs.

Certains de nos résultats ont déjà été publiés (1).

Nous en ajouterons d'autres, absolument inédits, sans insister toutefois sur le détail des différentes observations.

Dans la première partie de ces résultats, nous ne donnerons que les taux directs, dans l'urine et le sang, sans passage au bain-marie bouillant.

OBSERVATION I.

Mme Aug..., 6 comprimés par jour.

Après 8 comprimés :	g. ‰
Urine	0,0544
Sang	0,0041

Après 16 comprimés :

Urine	0,053
Sang	0,0043
Lait	0,0043
Urine (nourrisson)	0,016

Après 22 comprimés :

Urine	0,167
Sang	0,005
Lait	0,007
Urine (nourrisson)	0,015

Après 26 comprimés :

Urine	0,145
Sang	0,0041
Lait	0,0037

OBSERVATION II.

Mme Cout., 6 comprimés par jour.

Après 8 comprimés :

Urine	0,0428
Sang	0,0045

(1) Ingestion de carboxy-sulfamido-chrysoïdine et réaction de Marshall directe dans l'urine, le sang, le lait des femmes en travail ou en lactation. SERVANTIE, *Vie Médicale*, 26 mai 1939, n° 5, p. 283.

Après 14 comprimés :	g. ‰
Urine	0,049
Lait	0,005

Après 20 comprimés :	
Urine	0,225
Sang	0,0036
Lait	0,0042

Après 26 comprimés :	
Urine	0,083
Sang	0,0037
Lait	0,0035

OBSERVATION III.

Mme Bou...

Après 16 comprimés :	
Urine	0,172
Sang	0,0037
Urine (nourrisson)	0,012

OBSERVATION IV.

Mme Mass..., 9 comprimés le premier jour, 6 comprimés ensuite.

Urine	0,137
Lait	0,0037
Urine (nourrisson)	0,012

OBSERVATION V.

Mme Mag..., 9 comprimés par jour depuis 10 jours.

Urine	0,195
Sang	0,00625

OBSERVATION VI.

Mme Lali..., infectée post partum; hémoculture positive au streptocoque hémolytique. Traitée depuis 10 jours à 12 comprimés par jour en cinq à six prises, dont une de 3 comprimés à 6 heures du matin.

Prise de sang à 8 h. 30. Le lait est un mélange des trois prises faites dans la journée.

A reçu aussi du sérum antistreptococcique intraveineux (240 cm³). Guérison.

	g. ‰
Sang	0,00625
Lait	0,00425
Urines (nourrisson)	0,0187

A ces chiffres de sulfamide dans le sang, on peut reprocher de n'avoir affaire qu'à un prélèvement unique.

Pour répondre à cet argument, nous apporterons de nouveaux chiffres, pour lesquels nous donnerons aussi le taux de sulfamide global après passage au bain-marie bouillant.

Il est pourtant intéressant de signaler que la réaction de Marshall est positive après hydrolyse au bain-marie avec d'autres corps que les sulfamides. C'est ainsi que nous signalerons que la chrysoïdine elle-même peut agir, il en est ainsi également avec la carboxy-sulfamido-chrysoïdine. Ceci soulève pour le dosage de la sulfamide conjuguée un problème complexe.

Nous exprimerons nos résultats en sulfamide libre (premier chiffre); en sulfamide conjuguée (deuxième chiffre), et en sulfamide totale (troisième chiffre), sous toutes réserves quant à la valeur propre de ces termes.

OBSERVATION VII.

Mme Ross..., 6 comprimés par jour.

Après 20 comprimés :

	Sulfamide		
	libre g. ‰	conjuguée g. ‰	totale g. ‰
Urine	0,262	0,288	0,550
Sang : 8 h.	0,0045	0,0070	0,0115
11 h.	0,0052	0,0063	0,0115
16 h.	0,0055	0,0060	0,0115

OBSERVATION VIII.

Mme Gr..., 6 comprimés par jour.

Après 18 comprimés :

	Sulfamide		
	libre g. ‰	conjuguée g. ‰	totale g. ‰
Sang : 11 h.	0,0049	0,0066	0,0115
16 h.	0,0045	0,0045	0,009

Après 24 comprimés :

Urine (1.100 cm ³)....	0,235		
Sang : 11 h.	0,005	0,009	0,014
16 h.	0,005	0,009	0,014

Après 30 comprimés :

Urine (1.100 cm ³)	0,183	0,342	0,525
Sang : 8 h.	0,0045	0,0075	0,012
11 h.	0,0040	0,0090	0,013
16 h.	0,0045	0,0075	0,012

Après 36 comprimés :

Urine (800 cm ³)	0,196	0,196	0,392
Sang : 8 h.	0,0048	0,0048	0,0096
11 h.	0,0045	0,0045	0,0090
16 h.	0,005	0,0055	0,0105

OBSERVATION IX.

Mme Fer..., 8 comprimés par jour.

Après 20 comprimés :

	Sulfamide		
	libre g. ‰	conjuguée g. ‰	totale g. ‰
Urines (1.200 cm ³) ...	0,200	0,178	0,378
Sang : 11 h.	0,0058	0,0042	0,010
16 h.	0,007	0,007	0,014

Après 28 comprimés :

Urines (500 cm ³)	0,352	0,298	0,650
Sang : 8 h.	0,0060	0,0075	0,0135
11 h.	0,0060	0,0078	0,0138
16 h.	0,0064	0,0066	0,0130

Nous voyons donc la confirmation de nos premiers chiffres dans ceux obtenus par prélèvements quotidiens répétés.

Nous attirerons l'attention sur le fait que le chlorhydrate de triamino-benzène présente une réaction de Marshall directe, agissant comme la sulfamide, malgré le filtre utilisé, quoique avec une teinte légèrement différente.

De même, l'oxalate ajouté comme anticoagulant peut gêner par un excès. Nous avons vérifié cette action, mais ce n'est qu'avec de grosses quantités, 10 fois plus fortes que la dose normale de 2 grammes d'oxalate ‰ qu'il y a une diminution sensible de la coloration.

Si cette cause pouvait minimiser nos résultats, il en est une autre qui, au contraire, les renforce.

Chez certains malades, pneumoniques, par exemple, on peut trouver une réaction très faiblement positive, de l'ordre de 1 à 2 milligrammes par litre, en dehors de toute médication par corps blancs ou colorés. Cette constatation ne peut donc qu'être en notre faveur.

Nous ne ferons pas intervenir ici les éléments pathologi-

ques : par exemple, diurèse, élément rénal, diarrhée, qui peuvent modifier parfois d'une façon très notable la concentration sanguine en sulfamide libre d'une façon ou de l'autre.

En résumé, l'ingestion de carboxy-sulfamido-chrysoïdine (rubiazol) permet d'obtenir avec le sang, le lait, l'urine, une réaction de Marshall directe. Cette réaction doit, jusqu'à plus ample informé, être attribuée à la présence de sulfamide libre.

Les quantités trouvées dans le sang et le lait sont presque superposables, mais pour les doses thérapeutiques envisagées, inférieures à 0 mg. 9 %, soit 3 à 7 milligrammes par litre. La preuve de ce passage est le dosage du produit dans l'urine du nourrisson, environ 10 milligrammes par litre.

En conformité avec les notions pharmacologiques admises, il n'est pas possible d'attribuer à une si faible concentration de sulfamide libre l'effet thérapeutique total incontestable du produit ingéré.

En présence de l'innocuité du traitement par la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, en opposition avec les incidents et même les accidents de la médication sulfamidée à haute concentration, on ne peut s'empêcher de comparer les taux de concentration sanguine d'activité pour les deux produits : avec le corps coloré, nous obtenons un taux maximum de 0 mg. 7 de sulfamide libre pour 100 cm³ de sang ou de lait. Pour la sulfamide, la concentration active a été fixée entre 5 et 10 milligrammes de sulfamide directe par 100 cm³ de sang, soit 10 fois plus environ que la concentration précédente.

Les taux si faibles en sulfamide libre, obtenus dans le sang de nos patientes soumises à l'ingestion de doses thérapeutiques de carboxy-sulfamido-chrysoïdine, ne permettent guère de penser à une similitude d'action entre elles et les fortes concentrations, souvent mal supportées, considérées comme nécessaire dans le traitement sulfamidé seul.

CONCLUSIONS

Pour rédiger ces conclusions, nous nous sommes d'abord basé sur les résultats obtenus avant nous, puis ensuite sur nos propres expériences.

I. — Pour comprendre ce que deviennent les azoïques dans l'organisme, nous voyons, avec Sisley et Porcher, l'importance de la voie d'entrée. Par la voie digestive, un azoïque comme la chrysoïdine est réduit, sans doute par fermentation intestinale, avec une élimination de deux corps correspondant aux deux noyaux originels : aniline et triamino-benzène.

Par la voie parentérale, cette scission ne semble pas se produire et le corps est éliminé en nature.

Kellner, en partant des recherches précédentes, confirma pour la sulfamido-chrysoïdine l'importance et la sélectivité de la voie d'entrée. Il montra en outre que, suivant l'espèce animale envisagée, la réduction intestinale peut être incomplète avec formation d'hydrazoïque (lapin) ou poussée partiellement jusqu'aux termes ultimes : sulfamide et triamino-benzène (chien et homme).

Fuller, en dosant la sulfamide dans le sang et l'urine, conclut que la quantité de sulfamide trouvée après administration de prontosil était importante. Il n'osa cependant attribuer à la seule sulfamide l'action thérapeutique totale du prontosil.

Par l'expérimentation pharmacodynamique sur la souris, Fourneau, Trefouel, Nitti et Bovet, en essayant le prontosil et des corps similaires, ont constaté que, parmi les produits de coupure, le triamino-benzène était inactif, tandis qu'au contraire la sulfamide avait une activité remarquable.

Nous voyons donc qu'en partant de la chrysoïdine, puis de la sulfamido-chrysoïdine, la conclusion des dosages chimiques et de la méthode expérimentale met d'abord en valeur

l'importance de la scission de l'azoïque ingéré et d'un des produits de coupure, la sulfamide.

II. — En raison des inconvénients de la sulfamido-chrysoïdine, Girard et Gley ont expérimenté avec un nouveau corps : la carboxy-sulfamido-chrysoïdine, ou azoïque-4 de Girard. L'apposition d'un radical acide dans le noyau triaminé renforcerait considérablement les propriétés thérapeutiques du produit vis-à-vis du streptocoque, tout en diminuant le pouvoir toxique.

Les arguments pharmacodynamiques ont ici une valeur différente de ceux apportés par Fourneau et son école.

En particulier, il est difficile de comprendre la spécificité de l'azoïque-4 vis-à-vis du streptocoque et son action fort restreinte vis-à-vis des autres germes.

Dans tous les cas, cependant, la coupure serait la même, et on ne voit pas pourquoi la sulfamide libérée n'aurait pas la même action que la sulfamide pure sur les pneumocoques, gonocoques ou autres microbes.

Il manque cependant l'argument chimique admis maintenant pour le traitement par les corps sulfamidés : la concentration sanguine en sulfamide libre au cours du traitement par l'azoïque-4.

Nous avons décidé de voir si cette concentration correspondait au taux sanguin nécessaire pour obtenir une action thérapeutique avec la sulfamide seule, c'est-à-dire 5 centigrammes au moins par litre de sang.

III. — Les taux de sulfamide trouvés furent si faibles dans certains cas que nous avons été obligé d'utiliser une méthode de dosage précise et délicate. Cette méthode fut mise au point par M. Servantie et Demange. La technique de Marshall, qui leur servit de point de départ, présentait, comme nous l'avons dit, deux causes d'erreur. A l'aide de l'électro-photo-colorimètre de Kenneth-Evelyn, ils ont pu éliminer une de ces causes : l'apparition de teintes parasites.

Les perfectionnements apportés par Marshall lui-même à

son procédé ont permis à ces auteurs d'éviter la seconde cause : l'instabilité de la réaction obtenue.

Enfin, pour rendre la lecture des résultats plus rapide, ils ont établi une courbe de dosage.

IV. — Les dosages pratiqués le furent sur le sang et aussi sur les urines, afin de contrôler la prise du médicament. Nous avons également fait le dosage dans le lait, pour contrôler nos chiffres sanguins.

Les taux de concentration sanguine en sulfamide libre furent de 3 à 7 milligrammes par litre, et en aucun cas ne dépassèrent ce chiffre.

De si faibles concentrations obtenues chez des sujets soumis à l'ingestion de doses thérapeutiques de carboxy-sulfamido-chrysoïdine ne permettent guère de penser, en conformité avec les notions pharmacologiques admises, à une similitude d'action entre elles et les fortes concentrations, souvent mal supportées, considérées comme nécessaires dans le traitement sulfamidé seul.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes; si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

VU : *Le Doyen,*
PIERRE MAURIAC.

VU, BON A IMPRIMER :
Le Président,
PIERRE MAURIAC.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :
Bordeaux, le 10 juillet 1939.
Le Recteur de l'Académie,
G. BOUSSAGOL.

BIBLIOGRAPHIE

- ANSELM. — Unsere Erfahrungen mit Prontosil. bei Puerperalfieber. *Deutsche Med. Woch.*, 1935, LXI, 264.
- COLEBROOK, BUTTLE et O'MEARA. — The mode of action of Para-amino-benzène-sulfonamide and Prontosil in hemolytic streptococcal infections. *Lancet*, déc. 1936, II, 1323.
- COLEBROOK et KENNY. — Para-amino-benzène-sulfanilamide; absorption and excretion; Method of determination in urines and blood. *J. of. Am. Med. Ass.*, mai 1937, v. 108, 953.
- COLEBROOK et PURDIE. — Treatment of 106. cases of puerperal fever by sulphonamide. *Lancet*, déc. 1937, II, 1291.
- DOMAGK. — Ein Beitrag zur chemotherapie der bakteriellen infektionen. *Deutsche Med. Woch.*, févr. 1935, LXI, 250.
- Chemotherapie der bakteriellen infektionen. Angerwandte chemie. *Deutsche. Med. Woch.*, 1936, XLVII, 658.
- FABRE. — La chimiothérapie bactérienne par les composés organiques soufrés. *La Pharmacie française* : janv. 1939, n° 1, 11; févr. 1939, n° 2, 76.
- FOURNEAU, TREFOUEL (M. et Mme J.), NITTI et BOVET. — Chimiothérapie des infections streptococciques par les dérivés de la para-amino-benzène-sulfamide. *C. R. Soc. Biol.*, 122, 258, 1936.
- FULLER. — Is para-amino-benzene-sulphonamide the active agent in Prontosil therapy. *Lancet*, févr. 1937, I, 194.
- GIRARD. — Etat actuel de la chimiothérapie antistreptococcique par les composés sulfamidés. *Annales médico-chirurgicales*, III, n° 9, nov. 1938, 309.
- GLEY et GIRARD. — Un nouveau dérivé de la sulfamido-chrysoïdine très actif contre l'infection streptococcique. *Presse médicale*, nov. 1936, n° 91, 1775.

- GOISSEDET, DESPOIS, GAILLOT et MAYER. — De l'action du radical sulfamide SO_2NH_2 sur l'infection streptococcique expérimentale de la souris. *C. R. Soc. biol.*, 1936, 124, 1082.
- KELLNER. — Etude sur l'élimination de la sulfamido-chrysoïdine. Thèse Paris, 1936.
- KENNETH-EVELYN (A.). — A stabilized photo-electric colorimeter with light filters. *J. of Biol. Chem.*, août 1936, 115, 63.
- LE LORIER. — Mon expérience de la sulfamidothérapie préventive à la Maternité de Port-Royal. *Gazette des hôpitaux*, avril 1939, n° 34, 507.
- LEVADITI et VAISMAN. — Action curative du chlorhydrate de 4-sulfamido-2-4-diamino-benzène et de quelques dérivés similaires sur la streptococcie expérimentale. *C. R. Soc. biol.*, 1935, 119, 946.
- Au sujet du mécanisme de l'action thérapeutique des dérivés benzéniques sulfurés dans l'infection streptococcique expérimentale. *C. R. Soc. biol.*, 1938, 128, 476.
- LONG et BLISS. — Para-amino-benzène-sulfanilamide and its derivatives. *J. of Am. Med. Ass.*, janv. 1937, v. 108, 32.
- Use of para-amino-benzene sulphonamide (sulphanilamide) or its derivatives in treatment of infections due to β -hemolytic streptococci, pneumococci and meningococci. *Southern. med. Journal*, mai 1937, 30, 479.
- Observation on the mode of action of sulfanilamide. *J. of Am. Med. Ass.*, nov. 1937, v. 109, 1524.
- MAC LACHLAN (E. A.), CAREY (B. W.) et BUTLER (A. M.). — Determination of para-amino-benzene-sulphonamide; micro-method. *Journ. of Lab. clin. med.*, sept. 1938, 23, 1273.
- MARSHALL (E. K.), EMERSON, KENDALL et CUTTING. — Para-amino-benzène-sulfanilamide. Absorption and excretion. Method of determination in urines and blood. *J. of Am. Med. Ass.*, mai 1937, v. 108, 953.
- MARSHALL (E. K.). — Determination of sulfanilamide in blood and urines. *Proc. Soc. exp. Biol. chem.*, avril 1937, 36, 422; *Journ. of Biol. chem.*, déc. 1937, 122, 263.
- MARSHALL et LICHTFIELD. — Determination of sulfanilamide. *Science*, juill. 1938, 88, 83.

- NITTI (F.) et BOVET. — Action du 4-sulfamido-2-4-diaminobenzol (prontosil) sur les infections streptococciques expérimentales de la souris, provoquées par des streptocoques d'origine humaine. *C. R. Soc. biol.*, 1935, 119, 1277.
- Les septicémies streptococciques expérimentales et leur traitement par la para-amino-benzène-sulfamide. *C. R. Acad. sciences*, 1936, 202, 1221.
- POULAIN. — Contribution à l'étude expérimentale de la sulfamido-chrysoïdine et de quelques-uns de ses dérivés. Thèse Paris, 1936.
- RATHERY, DUPERROT et MASCHAS. — Anémie et infarctus tubaire après injection de sulfamide. *Soc. méd. hôp. Paris*, 24 mars 1939.
- ROSENTHAL. — Studies in chemotherapy. Effect. of para-amino-benzène-sulphonamide ou pneumococci in vitro. *S. M. Pub. Health. Rep.*, févr. 1937, 52, 192.
- SCHREUS. — Chemotherapie des Erysipels und underer infektionen mit Prontosil. *Deutsche. Med. Woch.*, 1935, LXI, 255.
- SERVANTIE. — Ingestion de carboxy-sulfamido-chrysoïdine et réaction de Marshall directe dans l'urine, le sang, le lait de femmes au travail ou en lactation. *Vie médicale*, mai 1939, n° 5, 283.
- SISLEY (P.) et PORCHER (Ch.). — Du sort des matières colorantes dans l'organisme animal. *C. R. Acad. sciences*, 1911, 1062.
- SISLEY, PORCHER et PANISSET. — De l'action des microbes sur quelques types de matières colorantes. *C. R. Acad. sciences*, 1911, 152, 1794.
- STEWART. — Excretion of sulfanilamide. *J. of Am. Med. Ass.*, 1938, v. 110, 1885.
- TREFOUEL (J. et Mme J.), NITTI et BOVET. — Activité du p. amino-benzène-sulfamide sur les infections streptococciques expérimentales de la souris et du lapin. *C. R. Soc. biol.*, 1935, 120, 756.

